



تأثیر استرس بر رشد، تولید مثل و محتوای کورتیزول بدن ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)

مریم عاطف^۱، بهرام فلاحتکار^{۲*}

- ۱- دانشجوی کارشناسی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان
۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۷

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۶

* نویسنده مسئول مقاله: falahatkar@guilan.ac.ir

چکیده

تأثیر استرس بر رشد، میزان کورتیزول بدن و عملکرد تولید مثل ۹۰ عدد ماهی ماده گوپی (*Poecilia reticulata*) نابالغ (0.03 ± 0.29 گرم) در ۳ تیمار و ۳ تکرار به مدت ۳۰ روز بررسی گردید. تیمارها شامل گروه شاهد (بدون دستکاری)، استرس دستکاری (نگهداری روزانه در تور به مدت ۲ دقیقه) و ماهیان تغذیه شده با کورتیزول (۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) بود. پس از این مدت، به هر کدام از تیمارها به تعداد ماهیان ماده باقی مانده، مولدین نر برای جفت‌گیری و القای تولید مثل اضافه شد. طبق نتایج حاصل، اختلاف معناداری در شاخص رشد بین تیمارها مشاهده نشد. میزان تلفات و غلظت کورتیزول در دو تیمار استرس دستکاری و تغذیه شده با کورتیزول به طور معناداری از گروه شاهد بالاتر بودند ($p=0.001$). تعداد جنین‌های شمارش شده نیز دارای اختلاف معناداری با یکدیگر بودند، به طوری که حداقل و حداقلتر مقدار آن به ترتیب در تیمار تغذیه شده با کورتیزول و تیمار کنترل مشاهده گردید ($p=0.000$). بنابراین، چنین دستکاری‌هایی اثرهای منفی بر روی درصد بقا و عملکرد تولید مثلی دارد و می‌تواند میزان کورتیزول کل بدن را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین اندازه‌گیری کورتیزول کل بدن می‌تواند معیار مناسبی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهیان کوچک آزمایشگاهی محسوب شود.

کلید واژگان: کورتیزول، استرس دستکاری، تولید مثل، گوپی، *Poecilia reticulata*

مقدمه

پاسخ غیراختصاصی بدن به هر نوع محرک خارجی عوامل استرس زا نامیده می‌شود. استرس باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های فیزیولوژیک در ماهیان می‌شود. پاسخ‌های فیزیولوژیک به رویدادها زمانی اتفاق می‌افتد که موجودات زنده برای مقاومت در برابر مرگ یا مواجه با ناهنجاری‌ها از خود تلاش نشان می‌دهند (Schreck, 2000). اسارت، دستکاری، تراکم جمعیت، حمل و نقل و همچنین بیهوشی از جمله مؤلفه‌هایی هستند که موجب ایجاد استرس در ماهیان خواهد شد (Bolasina, 2011). ماهیان نسبت به تغییرات محیطی از جمله شرایط فیزیکی و بیوشیمیایی بسیار حساس هستند (Bolasina, 2006)، به طوری که بر طبق مطالعات Crosby و همکاران (2005)، ایجاد هر نوع زخم و استرس مربوط به دستکاری ماهی و یا حمل و نقل آن‌ها، بر بقا و کیفیت ماهیان تأثیرگذار خواهد بود. همچنین مطالعات مختلف نشان‌دهنده اثرهای منفی استرس بر بسیاری از شاخص‌های تولیدمثلی می‌باشد که موجب تغییراتی در سطوح استروئیدهای جنسی، باروری، اندازه تخمهای و میزان بقای تخم و لارو Billard et al., 1981; Campbell et al., 1990). Roy و همکاران (1994; Morgan et al., 1999) کاهش میزان ویتلوزین را پس از مواجه با استرس ناشی از اسید، در جنس ماده ماهی قزلآلای جویباری (Salvelinus fontinalis) مشاهده نمودند. همچنین ایجاد استرس حاد در طول دوره اووژن، به دلیل ایجاد اختلال در ویتلوزین منجر به تولید تخمهای کوچک در جنس ماده ماهی قزلآلای رنگین‌کمان خواهد شد (Campbell et al., 1992) که این اثر ممکن است به واسطه هورمون کورتیزول انجام پذیرد که مانعی برای تولید ویتلوزین است (Milla et al., 2009).

هرمون کورتیزول که یک هرمون استروئیدی گلوکوکورتیکوئیدی و مهم‌ترین هرمون ترشح شده از بخش قدامی کلیه است، شاخص اولیه استرس در ماهیان بوده و عمده‌تاً با قرارگیری موجود زنده در معرض عوامل استرس‌زای حاد یا مزمن، مقدار آن افزایش می‌یابد (Ramsay et al., 2006). افزایش کوتاه مدت در میزان کورتیزول موجب سازگاری بدن جاندار با آن می‌شود، در حالی که افزایش بلند مدت در مقدار آن باعث ایجاد ناهنجاری‌های منجر به کاهش رشد، نقص در تولیدمثل و افزایش بیماری‌های عفونی خواهد شد (Jentoft et al., 2005; Schreck et al., 2001; 2005). در تحقیقات متعددی اثرهای زیبای کورتیزول بر عملکردۀای تولیدمثلی بررسی شده که این فرایند احتمالاً به طور غیرمستقیم با کاهش سنتز GnRH یا گنادوتروپین از طریق عملکرد مستقیم بر روی استروئیدهای جنسی گنادها امکان‌پذیر است (Pankhurst and Van Der Berg et al., 2004). میزان کورتیزول پلاسمایی، بیشتر به عنوان یک شاخص در گونه‌های بزرگ‌تر ماهی تلقی می‌شود (Wendelaar Bonga, 1997) در حالی که کورتیزول کل بدن، اغلب برای ماهی‌های کوچک‌تر و یا بافت‌های مختلف به کار می‌رود (Feist and Schreck, 2002; Ramsay et al., 2006; Falahatkar et al., 2013).

ماهی گوپی از خانواده پویسیلیده، یک ماهی کوچک و ساکن آب شیرین بوده که از مناطق آمریکای مرکزی و جنوبی نشأت گرفته و به دلیل داشتن رنگ‌های بسیار زیبا و سهولت در نگهداری، به عنوان یکی از محبوب‌ترین ماهیان زیستی در بین ماهیان آکواریومی شناخته شده است (Magurran, 2005). علاوه بر اهمیت زیاد این گونه از نظر اقتصادی، کوتاهی دوره رشد و نمو و همچنین سادگی

انجامید و در این مدت هواده‌ی به‌طور پیوسته انجام گرفت و آب تانک‌ها هر روز پیش از غذاده‌ی سیفون گردید تا فضولات و موادغذایی مصرف نشده از محیط خارج شوند. میزان دمای آب در طول دوره، ۲۷-۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی- ۱۲ ساعت تاریکی (Fournie et al., 1999) تعییه شد و تلفات احتمالی نیز به صورت روزانه ثبت شد.

ترکیب جیره و غذاده‌ی

برای تغذیه ماهیان در این تحقیق، از غذای بیومار پودری ساخت کشور دانمارک با میزان پروتئین خام ۲۸ درصد، چربی خام ۳ درصد، فیبر خام ۴ درصد و رطوبت ۱۰ درصد استفاده شد. برای آماده‌سازی جیره، به غذای تیمار کترول (فاقد کورتیزول)، اتانول ۹۶ درصد و به غذای دارای کورتیزول به ازای هر کیلوگرم وزن غذا، ۵۰۰ میلی‌گرم از این هورمون اسپری گردید (Bernier et al., 2004). ساخت غذا در ابتدای دوره پرورش انجام گرفت و جیره‌ها پس از خشکشدن و قرارگیری درون ظروف مخصوص، دور از نور قرار داده شده و برای غذاده‌ی به ماهیان استفاده شدند. غذاده‌ی ۳ وعده در روز (در ساعت ۷، ۱۵ و ۲۳) و بر حسب میزان اشتها انجام می‌گرفت.

شاخص‌های رشد

برای محاسبه شاخص‌های رشد، با توجه به اندازه‌گیری‌های انجام گرفته در انتهای آزمایش اول، نرخ رشد ویژه (SGR)، افزایش وزن بدن (BWI) و کارایی غذا (FE) از طریق فرمول‌های زیر سنجیده شد : (Falahatkar et al, 2006)

$\text{SGR} = \frac{\ln(\text{وزن نهایی به گرم}) - \ln(\text{وزن ابتدایی به گرم})}{100 \times \text{دوره پرورش به روز}} / (\text{وزن ابتدایی به گرم})$

تکثیر آن‌ها، از جمله مزیت‌هایی بوده که توجه بسیاری را برای انجام کارهای تحقیقاتی به‌سوی خود جلب کرده است. بنابراین مطالعه حاضر، با هدف تعیین مقدار کورتیزول کل بدن ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)، هنگام مواجهه با استرس و بررسی تأثیرهای ناشی از آن بر میزان تولیدمثل، درصد بازماندگی و تعیین شاخص‌های رشد انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

مراحل اجرایی این تحقیق از اردیبهشت تا تیر ۱۳۹۰ در سالن تکثیر و پرورش دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کیلان انجام پذیرفت. برای انجام این آزمایش، تعداد ۱۰ عدد ماهی ماده نابالغ به هر تانک با حجم آبگیری ۵ لیتر و در مجموع ۹۰ ماهی به سیستم آزمایش (۹ عدد تانک) معرفی شد. وزن اولیه ماهیان در ابتدای آزمایش به‌طور متوسط 0.29 ± 0.03 گرم (mean \pm SE) بود. توزیع ماهیان نیز به گونه‌ای انجام گرفت که هیچ گونه اختلاف معناداری از نظر وزن و طول در شروع آزمایش بین تانک‌ها وجود نداشت.

طراحی آزمایش

برای انجام این تحقیق، در مجموع ۳ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد که شامل تیمار کترول (بدون دستکاری)، استرس دستکاری (نگهداری در خارج از آب و در معرض هوا (Air exposure) به دفعات ۲ بار در روز، در زمان‌های مشخص و به مدت ۲ دقیقه به وسیله ساقچوک) (Eslamloo and Falahatkar, 2014) و تیمار تغذیه با هورمون کورتیزول (hydrocortisone; Sigma- Aldrich, St. Louis, MO, USA) (۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذا) بودند. دوره پرورش ۴ هفته به طول

۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ درصد ژلاتینه اضافه و ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۰۰g سانتریفیوژ نموده، پس از این مرحله، لایه بالایی جدا و به درون اپندرووف منتقل و اپندرووفها برای سنجش میزان کورتیزول به آزمایشگاه منتقل شدند (Hiroi et al., 1997).

اندازه‌گیری هورمون کورتیزول (به ازای هر تیمار ۳ تکرار) بر حسب نانوگرم در میلی‌لیتر با روش Radioimmunoassay بهوسیله نشان‌دار کردن با عنصر رادیو اکتیو ید ۱۲۵، با دستگاه گاماکانتر LKB ساخت فنلاند انجام شد (Redding et al., 1984).

تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (16)، پس از کترل طبیعی بودن آن‌ها به‌وسیله Wilk One-Way، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمایش Tukey برای مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تمام آنالیزهای آماری در سطح معناداری ($p < 0.05$) صورت گرفت و داده‌ها به صورت $(\text{mean} \pm \text{SE})$ ارائه شدند.

نتایج

مقدار غذای مصرفی

میزان غذای مصرفی ماهی گوپی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مقدار غذای مصرفی در تیمار کترل و کمترین مقدار آن در تیمار تغذیه شده با کورتیزول مشاهده شد، اما بین تیمارها اختلاف معناداری در مقدار غذای مصرفی وجود نداشت.

$$\begin{aligned} \text{وزن ابتدایی بدن} / (\text{وزن ابتدایی بدن}) &= (\text{درصد}) \text{ BWI} \\ 100 - [\text{وزن نهایی بدن}] &= (\text{درصد}) \text{ FE} \\ (\text{غذای خشک مصرفی} / \text{افزایش وزن}) &= (\text{درصد}) \text{ BWI} \\ 100 - [\text{تر}] &= (\text{درصد}) \text{ FE} \end{aligned}$$

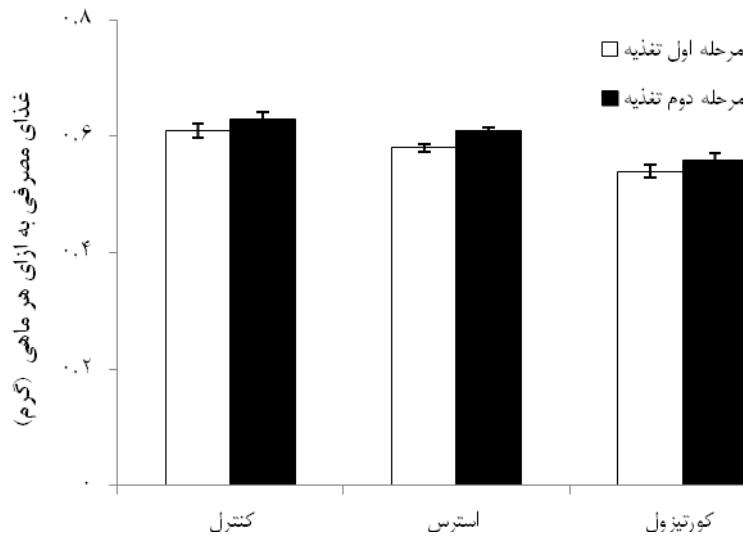
القای تولید مثل

در مرحله دوم آزمایش و پس از یک ماه تغذیه، به تعداد ماهیان ماده باقیمانده در مخازن، مولدین نر بالغ (به نسبت ۱:۱) اضافه گردید و در پایان دوره (۳۰ روز پس از تغذیه)، جنین‌های مربوط به باقیمانده مولدین در هر تیمار (کترل ۱ عدد، استرس ۶ عدد و کورتیزول ۹ عدد) شمارش شد. در این مرحله نیز تغذیه ۳ وعده در روز با غذای بیومار پودری و در همان ساعت تعیین شده و بر حسب میزان اشتها انجام گرفت.

اندازه‌گیری کورتیزول

ابتدا نمونه‌ها وزن شدند و پس از قرارگیری در لوله‌های آزمایش، به میزان ۵ برابر وزن نمونه‌ها، بافر فسفات (PBS = $0.01 \text{ M}, \text{pH}=7/2$) به آن‌ها اضافه شد، سپس با هموژنایزر (مدل التراتوراکس، آلمان)، عمل هموژن کردن در آن‌ها انجام پذیرفت. ۳۰۰ میکرولیتر نمونه هموژن شده با میکروسپلر به لوله آزمایش دیگری منتقل و به مقدار ۳ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر به آن‌ها اضافه گردید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه روی شیکر و حدود ۱۰ دقیقه به درون فریزر با دمای -۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از این مرحله، لایه بالایی جدا و به لوله دیگری انتقال یافت و برای تبخر کامل اتر زیر هود قرار داده شد. ۳۰۰ میکرولیتر تتراکلروکربن به ماده خشک شده درون لوله اضافه گردید و به مدت ۴ دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس به هر لوله آزمایش، مقدار

اثرهای استرس بر شاخص‌های رشد عاطف و فلاحتکار



شکل ۱ مقدار غذای مصرفی (mean \pm SE) ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) تحت شرایط مختلف تغذیه و نگهداری در دو مرحله تغذیه‌ای ۳۰ روزه (مرحله اول) و زمان القای تولیدمثل (مرحله دوم)

معناداری بین تیمارها مشاهده نشد. بیشترین و کمترین

میزان FE به ترتیب در تیمار کنترل و تیمار تغذیه با کورتیزول به دست آمد. همچنین اختلاف معناداری در میزان BWI و SGR تیمارهای مختلف وجود نداشت.

جدول ۱ شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده در ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) در تیمارهای مختلف پس از ۳۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean \pm SE)

تیمار	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	FE (%)	BWI (%)	SGR (٪ / روز)
کنترل	۰/۳۴ \pm ۰/۰۷	۰/۸۵ \pm ۰/۱۶	۵/۸ \pm ۰/۴۰	۱۵۶/۹۶ \pm ۱۴/۲۸	۱/۶۶ \pm ۰/۰۸
استرس دستکاری	۰/۳۰ \pm ۰/۰۶	۰/۷۷ \pm ۰/۱۳	۴/۹۸ \pm ۰/۳۸	۱۷۰/۶۳ \pm ۱۹/۸۸	۱/۷۸ \pm ۰/۱۲
تعذیبه با کورتیزول	۰/۲۱ \pm ۰/۰۵	۰/۵۱ \pm ۰/۰۹	۴/۱۰ \pm ۰/۴۳	۱۷۷/۸۶ \pm ۲۷/۴۰	۱/۹۹ \pm ۰/۱۷

عدم وجود حروف در ستون‌ها، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنادار در شاخص‌های مذکور است (p>0.05).

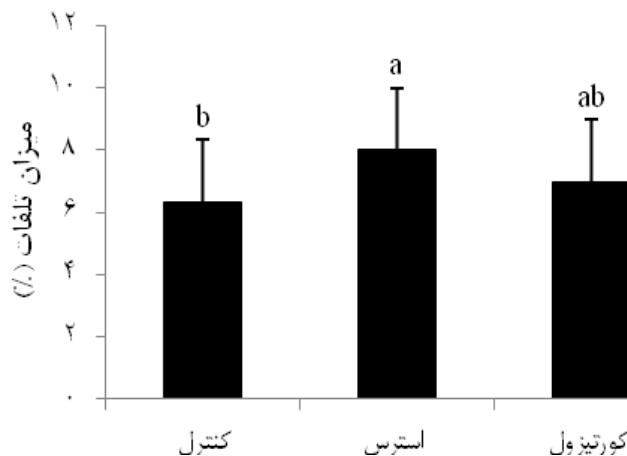
میزان تلفات دستکاری به طور معناداری بیشتر از تیمار کنترل بود

(p=0.001). این در حالی است که تیمار تغذیه با کورتیزول با ۲ تیمار دیگر اختلاف معناداری را نشان نداد.

جدول ۱ نتایج سنجش شاخص‌های رشد در ماهی گوپی را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، حداقل میزان وزن بدن در تیمار کنترل مشاهده شد اما اختلاف

شاخص‌های رشد

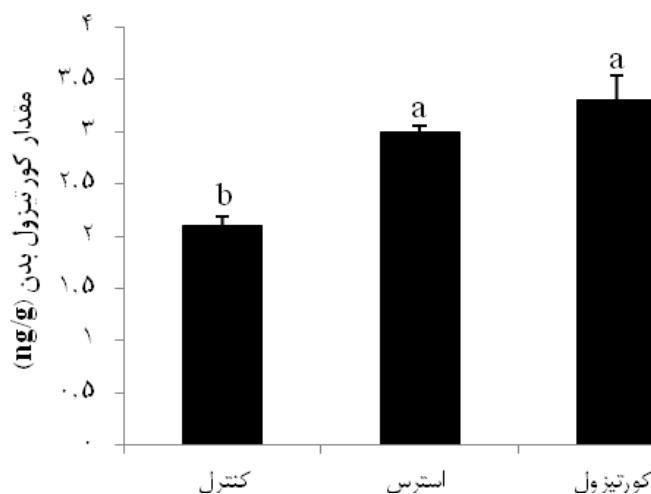
نتایج بررسی میزان تلفات در تیمارهای مختلف در شکل ۲ نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر در تیمار استرس



شکل ۲ مقدار تلفات محاسبه شده در ماهی گوپی پس از ۶۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean \pm SE) حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار است ($p < 0.05$).

مقدار کورتیزول (ng/g) 24.0 ± 3.0 است و اختلاف تغذیه با کورتیزول معناداری بین ۲ تیمار استرس دستکاری و تغذیه با کورتیزول مشاهده نشد، در حالی که تیمار کنترل به طور معناداری دارای مقادیر کورتیزول کمتری نسبت به دو تیمار دیگر بود ($p = 0.01$).

مقدار کورتیزول بدن ماهی گوپی ماده بالغ در تیمارهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که حداقل مقدار کورتیزول مربوط به تیمار کنترل (۲.۱۳ \pm ۰.۰۹ ng/g) و حداقل مقدار آن مربوط به تیمار

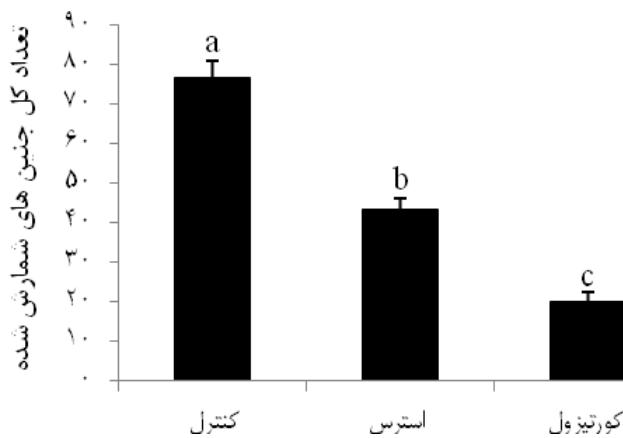


شکل ۳ میانگین کورتیزول اندازه‌گیری شده (ng/g) در بدن ماهی گوپی پس از ۶۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean \pm SE) حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار است ($p < 0.05$).

در تیمار کنترل به میزان $4/18 \pm 76/67$ مشاهده گردید که نشان‌دهنده وجود اختلاف معنادار در بین ۳ تیمار حاضر بود ($p=0.000$).

تعداد جنین‌های شمارش شده

شکل ۴ نتایج شمارش جنین در تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد که حداقل تعداد شمارش شده در تیمار تغذیه شده با کورتیزول به میزان $2/31 \pm 20/00$ و حداقل مقدار آن،



شکل ۴ تعداد جنین‌های شمارش شده در ماهی گوپی پس از ۶۰ روز نگهداری تحت شرایط مختلف (mean \pm SE) (mean \pm SE) (mean \pm SE). حروف غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار است ($p<0.05$).

اثرهای این هورمون با واسطه‌هایی صورت می‌پذیرد که به وسیله تنظیم فعل و افعالات با برخی از نوروپیتیدهای مغز پیشین نظری نوروپیتید ۲ و عامل آزاد کننده کورتیزول (CRF) در تنظیم مصرف غذا دخالت دارند. علاوه بر NPY و CRF دیگر مراکز نورونی نیز ممکن است به صورت واسطه، اثرهای کورتیزول را روی مصرف غذا کنترل کند (Nikki et al., 2004). فعالیت کورتیزول در میزان غذای مصرفی ماهی گوپی، به مجموع اثرهای آنابولیک و کاتابولیک گلوکوکورتیکوئیدها، روی هر دو بخش محیطی و مرکزی مغز وابسته است و اثرهای گلوکوکورتیکوئیدها در میزان تغذیه جانوران به دز مصرفی و نیز وضعیت جاندار بستگی خواهد داشت. به طوری که Bernier و همکاران (۲۰۰۴)، اثرهای کورتیزول بر مقدار غذای مصرفی و رشد ماهی طلایی (*Carassius auratus*) را بررسی کردند. نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها نشان داد

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده، بیشترین میزان غذای مصرفی هر ماهی مربوط به تیمار کنترل و کمترین آن مربوط به تیمار تغذیه شده با کورتیزول بود اما اختلاف موجود بین تیمارها معنادار نبود. با توجه به نوع استرس‌هایی که در تحقیق حاضر بر روی ماهی گوپی انجام گرفت، به نظر می‌رسد ماهی دچار یک مرحله تطبیقی با شرایط استرس زای موجود شده باشد؛ بنابراین مقدار غذای مصرفی و به تبع آن، شاخص‌های رشد تحت تأثیر قرار نگرفت. در حالی که برخی از مطالعات نشان می‌دهند که هورمون کورتیزول می‌تواند موجب تغییراتی در میزان غذای مصرفی به وسیله ماهی گردد. این هورمون به عنوان یک عامل بالا برنده سطح گلوکز و یا آمینواسید خون ماهی شناخته شده است و می‌تواند به عنوان یک عامل محرک، اشتها را سرکوب کند (Andersen et al., 1991).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که بین تیمار مورد تغذیه با کورتیزول و استرس دستکاری نسبت به تیمار کترل، افزایش معناداری در مقدار کورتیزول بدن ماهی گوپی وجود دارد که علت آن را می‌توان به ترشح بیشتر هورمون کورتیکوستروئیدها از غده فوق کلیوی نسبت داد (Pottinger et al., 2002). تحت شرایط استرس‌زا، هورمون آزادکننده کورتیکوتروفین ترشح شده از هیپوپotalamus، غده هیپوفیز را برای آزاد کردن ACTH (Adrenocorticotropic Hormone) تحريك می‌کند و از طریق گردش خون به سلول‌های بین کلیوی در قسمت قدامی کلیه وارد شده و با تحريك سلول‌های بین کلیوی سبب ترشح کورتیزول می‌گردد (Schreck et al., 2001; Pierson et al., 2004).

Ramsay و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده نمودند که میزان کورتیزول کل بدن ماهی گورخری (*Danio rerio*), تحت شرایط استرس‌زا تراکم، به مرتب ۴ برابر بیشتر از ماهیان موجود در تراکم کمتر است. همچنین Sakakura و همکاران (۱۹۹۸) و Ramsay و همکاران (۲۰۰۹)، به ترتیب افزایش معناداری در میزان کورتیزول کل بدن ماهی زردباله (*Quinqueradiata Seriola*) و ماهی گورخری نسبت به تیمار کترل، پس از استرس دستکاری مشاهده کردند.

همچنین مطالعات Bernier و همکاران (۲۰۰۴) بر روی طلایی (*Carassius auratus*) و Small (۲۰۰۴) بر روی گربه ماهی کانالی (*Channel catfish*), با اسپری نمودن کورتیزول بر روی جیره غذایی، افزایش مقدار آن را در تیمار مورد تغذیه با کورتیزول نسبت به تیمار کترل نشان دادند. Poursaeid و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش میزان کورتیزول بافت نسبت به تیمار کترل را در فیل ماهی (*Huso huso*) مشاهده نمودند.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، درصد تلفات تیمار استرس دستکاری بیشتر از تیمارهای دیگر مورد

که از طریق غذادهی با استفاده از جیره‌های حاوی ۵۰ و (ng/g) کورتیزول در هر گرم غذا، در تیمار کترل و تیمار تغذیه شده با بالاترین سطح کورتیزول، میزان مصرف غذای روزانه بدون تغییر باقی ماند در حالی که در تیمار تغذیه شده با مقدار کورتیزول پایین، میزان غذای مصرفی به تدریج افزایش یافت. Davis و همکاران (۱۹۸۵)، تفاوتی در میزان پذیرش غذا در گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) بین تیمارهای کترل و تغذیه شده با کورتیزول مشاهده نکردند، در حالی که Barton و همکاران (۱۹۸۷) از دست دادن اشتها و ایجاد رفتار تهاجمی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد تغذیه با کورتیزول را گزارش نمودند. همچنین Gregory و Wood (۱۹۹۹) نیز نشان دادند که در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تیمار تغذیه شده با کورتیزول به‌طور معناداری، دارای اشتها کمتری نسبت به تیمار کترل است. علاوه بر این، میزان غذای مصرفی در تیمار تغذیه شده با غذای حاوی کورتیزول در مقایسه با تیمار کترل کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان داد. همچنین آن‌ها دریافتند که کاشت کورتیزول در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌طور معناداری موجب کاهش میزان غذای مصرفی در آن‌ها خواهد شد.

در مطالعه حاضر، با وجود مشاهده افزایش وزن کمتر در رژیم غذایی دارای کورتیزول نسبت به ۲ تیمار دیگر، نرخ رشد بیشتری مشاهده گردید، اما اختلاف موجود بین تیمارها معنادار نبود. با این حال به نظر می‌رسد که طولانی‌تر شدن دوره پرورش بتواند منجر به ظهور تفاوت‌هایی در میزان رشد در تیمارهای مختلف شود که نتایج حاصل، با نتایج به‌دست آمده از مطالعات Bernier و همکاران (۲۰۰۴) و Poursaeid و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت.

ایجاد استرس، افزایش تنفس در ماهیان، کاهش میزان غذای مصرفی و مقدار رشد در ماهیان و نیز کاهش چشمگیر در تعداد جنین‌های تولید شده، می‌شود. از این‌رو میزان درصد بقای بچه ماهیان نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. همچنین تعیین مقدار کورتیزول کل بدن می‌تواند به عنوان یک ابزار برای ارزیابی استرس، بهینه‌سازی شرایط پرورش و بهبود سلامتی این گونه از مهره‌داران به‌ویژه ماهیان کوچک آزمایشگاهی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

از کارکنان محترم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان که در این تحقیق یاری‌رسان ما بودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

Andersen, D. E., Reid, S. D., Moon, T. W. and Perry, S. F. 1991. Metabolic effects associated with chronically elevated cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 1811-1817.

Barton, B. A., Schreck, C. B. and Barton, L. D. 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2: 173-185.

Bernier, N. J. and Peter, R. E. 2004. Effects of cortisol on food intake, growth, and forebrain neuropeptide Y and corticotrophin-releasing factor gene expression in goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, 135: 230-240.

Berg, A. H., Modig, C. and Olsson, P. E. 2004. 17beta-estradiol induced vitellogenesis is inhibited by cortisol at the post-transcriptional level in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 62.

Billard, R., Bry, C. and Gillet, C. 1981. Stress, environment and reproduction in teleost fish. In *stress and Fish* (Pickering, A. D., ed.), pp. 185-208. London: Academic Press.

Bolasina, S. N. 2011. Stress response of juvenile flounder (*Paralichthys orbignyanus*, Valenciennes

آزمایش بود و اختلاف معناداری را با تیمار بدون استرس نشان داد. رویه‌رو شدن ماهی با عوامل استرس‌زاوی حاد یا مزمن که از حد ظرفیت تطبیقی ماهی فراتر باشد و ماهی نتواند خود را با آن سازگار کند، احتمال بقای ماهی را کاهش و به دنبال آن درصد تلفات را افزایش خواهد داد؛ در حالی که استفاده از جیوه غذایی حاوی کورتیزول، به‌دلیل سازگاری ماهی با شرایط ممکن از میزان تلفات نسبت به شرایط استرس‌زاوی حاد می‌کاهد. از طرفی ممکن است استرس کمتر از حد کشنده نیز در صورت مزمن شدن، به علت مصرف انرژی مورد نیاز برای جبران آن، سلامتی ماهی را تضعیف کند (Wedemeyer, 1996).

استرس با ایجاد تأثیرهای منفی بر عملکرد تولیدمثل موجب تغییراتی در باروری، اندازه تخمرها و فراوانی لاروها خواهد شد، به‌طوری‌که در تحقیق حاضر، بیشترین تعداد جنین‌ها در تیمار کنترل مشاهده گردید و در تیمار استرس دستکاری و تغذیه شده با کورتیزول به‌ترتیب از میزان جنین‌های تولیدی کاسته شد. استرس دستکاری موجب کاهش سطح تستوسترون پلاسمای ۱۷ بتا استرادیول می‌گردد که در نتیجه آن سطح ویتلوزنین پایین آمده و در نهایت موجب کاهش حجم و اندازه تخمدان و مهم‌تر از آن کاهش درصد بازماندگی تخمرهای لقادرهای یافته می‌گردد. در آزمایش‌های بسیاری ثابت شده است که کورتیزول رها شده در خون در نتیجه استرس به عنوان یک عامل اصلی در کاهش تولیدمثل است. این هورمون هم موجب کاهش سطح استرادیول و ویتلوزنین در گردش خون شده و باعث کاهش اندازه گنادها نیز می‌شود. استرس‌های ناشی از دستکاری، اسارت و تحریک باعث جلوگیری از اولویه شدن (Wallace (*Centropomus undecimalis*) Bloch et al., 1993) و نیز افزایش فساد تخمرها خواهد شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش میزان کورتیزول، باعث

- Poecilia reticulate. Diseases of Aquatic Organisms*, 38: 135-142.
- Gregory, T. R. and Wood, C. M. 1999.** The effects of chronic plasma cortisol elevation on the feeding behaviour, growth, competitive ability, and swimming performance of juvenile rainbow trout. *Physiological and Biochemical Zoology*, 72: 286-295.
- Hiroi, J., Sakakura, Y., Tagawa, M., Seikai, T. and Tanaka, M. 1997.** Developmental changes in low-salinity tolerance and responses of prolactin, cortisol and thyroid hormones to low-salinity environment in larvae and juveniles of Japanese Flounder, (*Paralichthys olivaceus*). *Zoological Science*, 14: 987-992.
- Jentoft, S., Aastveit, A. H., Torjesen, P. A. and Andersen, Q. 2005.** Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 141: 353-358.
- Magurran, A. E. 2005.** Evolutionary ecology: the Trinidadian guppy. Oxford University Press, Oxford, U.K. 24p.
- Milla, S., Wang, N., Mandiki, S. N. M. and Kestemont, P. 2009.** Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction? *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 153: 242-251.
- Morgan, M. J., Wilson, C. E. and Crim, L. W. 1999.** The effect of stress on reproduction in Atlantic cod. *Journal of Fish Biology*, 54: 477-488.
- Nikki, J., Pirhonen, J., Jobling, M. and Karjalainen, J. 2004.** Compensatory growth in Juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), held individually. *Aquaculture*, 235: 285-296.
- Pankhurst, N. W., and Van Der Kraak, G. 2000.** Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout *in vivo*, through the action of cortisol. *General and Comparative Endocrinology*, 117: 225-237.
- Pierson, P. M., Lamers, A., Flik, G. and Mayer-Gostan, N. 2004.** The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 137: 263-271.
- 1839), to acute and chronic stressors. *Aquaculture*, 313: 140-143.
- Bolasina, S. N., Tagawa, M., Tanaka, M. and Yamashita, Y. 2006.** Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 259: 432-443.
- Campbell, P. M., Pottinger, T. G. and Sumpter, J. P. 1992.** Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of Reproduction*, 47: 1140-1150.
- Campbell, P. M., Pottinger, T. G. and Sumpter, J. P. 1994.** Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture*, 120: 151-169.
- Crosby, T. C., Hill, J. E., Martinez, C. V., Watson, C. A. and Yanong, R. P. E. 2005.** On-Farm Transport of Ornamental Fish. UF/IFAS Circular 119 On-Farm Transport of Ornamental Fish, <http://edis.ifas.ufl.edu/FA119>.
- Davis, K. B., Torrance, P., Parker, N. C. and Suttle, M. A. 1985.** Growth, body composition and hepatic tyrosine aminotransferase activity in cortisol-fed channel catfish (*Ictalurus punctatus*) Rafinesque. *Journal of Fish Biology*, 27: 177-184.
- Eslamloo, Kh. and Falahatkar, B. 2014.** Variations of some physiological and immunological parameters in siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) subjected to an acute stressor. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 17: 29-42.
- Falahatkar, B. and Poursaeid, S. 2013.** Stress responses of great sturgeon (*Huso huso*) subjected to husbandry stressors. *Aquaculture International*, 21: 947-959.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M. R. and Pourkazemi, M. 2006.** Effects of dietary vitamin C supplementation on performance, tissue chemical composition and alkaline phosphatase activity in great sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology*, 22: 283-286.
- Feist, G. and Schreck, C. B. 2002.** Ontogeny of the stress response in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 25: 31-40.
- Fournie, J. W., Hawkins, W. E. and Walker, W. W. 1999.** Proliferative lesions in swimbladder of Japanese medaka *Oryzias latipes* and guppy

rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acid exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19: 803-806.

Sakakura, Y., Tagawa, M. and Tsukamoto, K. 1998. Whole-body cortisol concentrations and ontogeny of aggressive behavior in yellowtail (*Seriola quinqueradiata* Temminck & Schlegel; Carangidae). *General and Comparative Endocrinology*, 109: 286-292.

Schreck, C. B. 2000. Accumulation and long-term effects of stress in fish. In: Moberg, G. P., Mench, J. A. (Eds.). *The Biology of Animal Stress*, pp. 147-158.

Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W. and Fitzpatrick, M. S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3-24.

Small, B. C. 2004. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 64: 589-596.

Wallace, R. A., Boyle, S. M., Grier, H. J., Selman, K. and Petrino, T. R. 1993. Preliminary observations on oocyte maturation and other aspects of reproductive biology in captive female snook, *Centropomus undecimalis*. *Aquaculture*, 116: 257-273.

Wedemeyer, G. A. 1996. Physiology of fish in intensive culture system. International Thompson Publishing, New York. pp. 219-226.

Wendelaar Bonga, S. E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.

Pottinger, T. G., Carrick, T. R., Yeomans, W. E. 2002. The three-spined stickleback as an environmental sentinel: effects if stressors on whole-body physiological indices. *Journal of Fish Biology*, 61: 207-229.

Poursaeid, S., Falahatkar, B. and Mojazi Amiri, B., Kraak, G. V. D. 2012. Effects of long-term cortisol treatments on gonadal development, sex steroids levels and ovarian cortisol content in cultured great sturgeon *Huso huso*, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 163: 111-119.

Ramsay, J. M., Feist, G. W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M. L. and Schreck, C. B. 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture*, 258: 565-574.

Ramsay, J. M., Feist, G. W., Varga, Z. M., Westerfield, M., Kent, M. and Schreck, C. B. 2009. Whole-body cortisol response of zebrafish to acute net handling stress. *Aquaculture*, 297: 157-162.

Reddy, P. K., Renaud, R. and Leatherland, J. F. 1999. Effects of cortisol and triiodo-L-thyronine on the steroidogenic capacity of rainbow trout ovarian follicles at two stages of oocyte maturation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21: 129-140.

Redding, J. M., Schreck, C. B., Birks, E. K. and Ewing, R. D. 1984. Cortisol and its effects on plasma thyroid hormone and electrolyte concentrations in fresh water and during sea water acclimation in yearling coho salmon, (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, 56: 146-158.

Roy, R. L., Ruby, S. M., Idler, D. R. and Ying, S. 1990. Plasma vitellogenin levels in pre-spawning